

病因究明の現状と新たなアプローチ

特定非営利活動法人 日本川崎病研究センター

川崎 富作

1. はじめに

筆者が川崎病の第1例に遭遇したのは1961年1月であるが、1年後の1962年2月に2例目に遭遇して、本症の独自性を確信した。幸い同様の症例を次々に経験したので、同年10月“非猩紅熱性落屑症候群について”と題して、第61回日本小児科学会千葉地方会に7例を報告した。はじめ、第1例がクームス陽性溶血性黄疸を伴っていたので、他の検査所見(白血球増多、左方核移動、CRP強陽性、赤沈値の高度促進など)と考え併せて、何らかの細菌感染に伴う自己免疫性メカニズムが、その病態ではなかろうかと推測したが、咽頭や血中から病原体の証明ができず、クームス試験も第1例を除いてはすべて陰性であったので、はじめにいただいた自己免疫性メカニズムによるとの仮説は放棄せざるを得なかった。

その後も毎年症例を重ねて6年間に50例に達したので原因不明のまま、自験例50例の臨床像の精細を1967年3月『アレルギー』誌に報告¹⁾したところ、各地の小児科医から別冊の請求が相次ぎ、本症が全国的に経験されていることを実感した。この原著をまとめるまでに、通常の細菌検査やウイルスのリコール、血液、便、尿からの分離などを予防衛生研究所に依頼したり、ついには頸部リンパ節の生検を数例に行いそのリンパ節から病理組織の検査のみならず、細菌やウイルスなどの病原体の分離を試みたがいずれも陰性であった。

2. 川崎病病因論

1970年、旧厚生省医療研究助成金を得て本症の研究班が発足し、筆者の個人的な研究から手元を離れ、研究班として、疫学、臨床および病因追及の本格的な研究が始まった。かくて、今日までの30年間に合成洗剤アレルギー説・水銀説・ダニ抗原説などの非感染説、溶連菌・緑連菌・サンギス(MCLSII型)

菌・ブドウ球菌・エルシニア菌・Propioni bacterium acnesなどの細菌説、ロタウイルス・EBウイルス・RSウイルス・リケッチア・カンジダなどウイルス、その他の微生物説が主として日本の研究者から、アメリカからはレトロウイルス説やスーパー抗原説などが提唱²⁾されてきたが、いずれも国際的に承認されていない。

1982年には日本心臓財団が民間の力で川崎病原因究明委員会を発足させ、ダニアレルギー説やウイルス、細菌説などを10年余りにわたって鋭意検討したが、結論を得るに至らなかった。このように諸説紛紛としている中で、今日注目されているスーパー抗原説を取り上げてみよう。

川崎病と猩紅熱と毒素性ショック症候群(toxic shock syndrome: TSS)との発疹の性状を精細に観察すると、3者で特徴が異なっている点が挙げられる。猩紅熱とTSSの発疹は全身性びまん性であるが、前者は粟粒大の紅斑が汗腺を中心に密に連なって、一見サンドペーパー様の外観を呈しているのに対して、後者はそのような特徴はなく、いわゆる、全身の紅皮症(日光による日焼け、火傷による紅皮症と同じ)として認識、把握され、微妙に両者は違っている。

この発疹の違いは、免疫応答によるサイトカイン類の違いによると思われるが、猩紅熱は溶連菌菌体外毒素(Streptococcal pyrogenic exotoxin)つまりSPE-A、-B、によると考えられている。一方TSSの発疹は黄色ブドウ球菌toxic shock syndrome toxin (TSST)-1が最初病因毒素として同定されたが、その後他のブドウ球菌毒素つまりStaphylococcal enterotoxin (SE) A-HもTSSの病因として疑われ、さらにはSPEもTSSの病因に加わってきて、猩紅熱とTSSとの病因因子が病因論的にオーバーラップしてきている。ただ、SPE-A、-B、-CやTSST-1、SEが、スーパー抗原として考えられている点は共通している。他方、川崎病の発疹は一般に、猩紅熱やTSSとは全く違ったいわゆる“不定形紅斑”である。これらの点を考慮すると、川

崎病と他の両者には病因および発症機序に相当の隔たりがあるのではなかろうか。猩紅熱もTSSも全く血管炎を伴わない。このことは、川崎病がこの2者の病因とされるスーパー抗原による免疫応答とは違う通常の抗原による免疫応答で発症している可能性が大きい。

TSST-1 やSPE-A, -Bのスーパー抗原性をいち早くマウスのT細胞を用いて証明したのは内山ら³⁾(1994)であるが、その内山らは患者の末梢血T細胞を用いた解析では特定のTCR(T-cell receptor) V β の陽性細胞の増減はなく、反応性にも異常を認めなかったので川崎病にスーパー抗原の関与を示唆する結果は得られなかったと報告している。

最近Rowleyら⁴⁾は川崎病の発症機序はスーパー抗原ではない通常の抗原による免疫応答の可能性が強いとの仮説を出している。临床上、川崎病のスーパー抗原説は阿部ら⁵⁾の報告をもって嚆矢とする。1992年阿部らは川崎病患者の末梢血Tリンパ球のTCRV β レパートリーの解析を抗V β モノクローナル抗体を使ってquantitative PCR法とcytofluographic analysisを行ったところ、川崎病急性期の末梢血Tリンパ球にはV β 2陽性とV β 8.1陽性Tリンパ球が有意に増加しているが、他のV β レパートリーの陽性Tリンパ球は全く増加しておらず、川崎病回復期の末梢血Tリンパ球はV β 2陽性とV β 8.1陽性Tリンパ球が著しく減少していた点を見だし、かつ、川崎病急性期の血清では半数以上の症例でSPE-Aの抗体が陽性であったので、SPEがスーパー抗原として急性期のpathogenesisに関与している可能性があると報告した。この学説より6年後、1998年に和歌山県立医科大学小児科と塩野義製薬中央研究所の共同研究チームは川崎病急性期の末梢血Tリンパ球中のTCRV α およびV β レパートリーをadapter-ligation PCR(AL-PCR)法とreverse dot blotting(RDB)法を用いて解析したところ、V β 2.1とV β 6.5陽性リンパ球が有意に入院時に増加していたと報告し、阿部らとはV β 2陽性では一致しているが、V β 8.1ではなくV β 6.5陽性と相異した成績ではあるがスーパー抗原説を支持する報告⁶⁾を行った。この和歌山県立医科大学小児科と塩野義製薬中央研究所との共同研究の成果は2000年4月和歌山で開催された第103回日本小児科学会で、会頭の池田通夫・和歌山県立医科大学教授(当時)は“川崎病の原因になるもの”と題して、それまでの研究過程を述べ、TCRV β レパートリーの新しい方法による解析の結果、連鎖球菌発熱

性外毒素SPE-Cがスーパー抗原として川崎病の病因に重要な役割を果たしていると考えたと報告⁷⁾した。いわゆる川崎病SPE-C病因説である。しかし、この学説では临床上A群溶連菌が患者から証明されないし、SPE-C自体も証明されていないので、決定的な証拠に欠けていると多くの人が感じていた。このような場合何よりもSPE-C毒素そのものを患者から証明しない限り説得力を欠いている。したがって、川崎病のSPE-Cスーパー抗原説⁸⁾はいまだに国際的な市民権を得ていない。

またアメリカの1994年Rowleyら⁹⁾、1999年Takahashiら¹⁰⁾が、近年、急速に発展した分子生物学的および遺伝子工学的手法を応用して、川崎病の病原因子を確定しようと試みたが、前者は不成功とし、後者はダニ脳炎ウイルスの可能性を指摘したが、その後の進展は不明である。

3. 新しい方法による病因追及

筆者は、川崎病の病因解明に対する情熱は1961年の第1例以来今日まで40年にわたって持ち続けており、決して人後に落ちないと自負してきたが、終始臨床病院での育ちのため、いまだかつて、自分の研究室を持つ機会が与えられなかった。筆者はこのことを以前アメリカのあるmeetingで話したら、即座に“Unbelievable!”との返事がかえってきた。おそらく欧米先進国の常識では信じ難いことなのであろう。幸か不幸か、官製の研究班も民間の原因究明委員会も30年にわたって懸命に原因解明に取り組んではきたが、結局原因究明に至らず今日大きな壁にぶち当たっているのが実情である。古川 漸・山口大学教授は前任の順天堂大学在職中から一貫して、川崎病の免疫応答を追求してこられ、その仕事にはずっと注目していた。特に患者末梢血中のmacrophage/monocyteの機能および形態変化の研究は抗原提示細胞としての活性化をよく説明していると感じていた。

1999年、たまたま千葉大学免疫学の谷口 克教授が『免疫の不思議』¹¹⁾と題する小冊子を贈ってくださったので、興味を持って読んでいた時、岡山大学免疫学の中山審一教授が、癌抗原の一種を発見し、免疫療法の足掛かりとなる可能性に触れている個所

を見いだし、この方法を川崎病抗原発見に応用してもらえないだろうかと考えた。そこで、古川教授に相談したところ、中山教授と相語らって筆者の提案を快く受け入れてくださるとの返事をいただいた。

ちょうどその頃筆者は1999年9月特定非営利活動法人日本川崎病研究センターを旗揚げし、その目的の第1に「川崎病の原因究明と予防法の確立」を掲げていたので、理事会に諮って、古川・中山共同研究チームに可能な限りの支援をしていくことを決定し、すでに3年間が経過した。さて、古川・中山共同研究チームははじめ、限られた山口県内の関連病院の中から川崎病患者末梢血中のmacrophage/monocyteを集めて、SEREX法で、川崎病の抗原検出を試みたが資料が少なすぎて成功しなかった[注：SEREX法 (serological identification of antigens by recombinant expression cloning)；これは癌抗原を同定する目的で開発され、この方法で中山教授が癌抗原の一種を発見した]。

次に川崎病血管炎の発症機序を既知のヒト臍帯静脈(HUVEC)由来の血管内皮細胞を用いてSEREX法により解明しようと試みた。すなわち臍帯静脈内皮細胞由来の細胞成分(細胞壁、細胞質、核など)と川崎病患者4例の回復期血清と反応する抗原をSEREX法で同定し、現在までに既知31種、未知9種、計40種

の抗原遺伝子が見いだされた¹²⁾。しかし川崎病患者血清中の抗体に反応する血管内皮細胞由来の多くの抗原の中から、真の川崎病血管炎の原因抗原を確定するには慎重を要すると思う。さらなる研究の進展を期待したい。

本共同研究チームの目的の本命は川崎病の真の病原体の確定である。現在進行中の患者末梢血のmacrophage/monocyteサンプリングが、多くの施設の協力で十分な量の細胞数(5×10^7 個)に達した時、SEREX法という新しい方法で、広い範囲の抗原ペプチドから真の抗原そのものが確定されることを大いに期待している。

4. むすび

臨床医学の最終目的は予防法の確立である。予防法の確立にはまず原因を解明する必要がある。前述の如く現在、古川・中山共同研究チームが川崎病の病因解明に今まで誰も試みなかった新しいSEREX法を応用して挑戦しているので、おそらくここ数年内に結論が出るであろう。

参考文献

- 1) 川崎富作：指趾の特異的落屑を伴う小児の急性熱性皮膚粘膜淋巴腺症候群(自験例50例の臨床的観察)。アレルギー 1967；16：178-222
- 2) 重松逸造，川崎富作，濱島義博，他：川崎病病因論のあゆみ。川崎病。東京，南江堂，1988，pp286-291
- 3) 内山竹彦：川崎病におけるT細胞活性化の検討。平成7年度～平成8年度科学研究費補助金[文部省 基礎研究(A)(1)]研究成果報告書。研究代表者・加藤裕久：川崎病の成因，病態解明に関する総合研究。1997
- 4) Rowley AH, Shulman ST, Spike BT, et al: Oligoclonal IgA response in the vascular wall in acute Kawasaki-disease. J Immunol 2001；166: 1334-1343
- 5) Abe J, Kotzin BL, Jujo K, et al: Selective expansion of T-cell receptor variable region Vb2 and Vb8 in Kawasaki-disease. Proc Natl Acad Sci U S A 1992；89: 4066-4070
- 6) 鈴木啓之，上村 茂，小池通夫：川崎病患者のT細胞V α およびV β レパートリーの解析。Prog Med 1998；18：399
- 7) 小池通夫：川崎病の原因になるもの。日児誌 2000；104：113
- 8) 川崎富作：川崎病の新しい病因論。日本医師会雑誌 2000；124：533-538
- 9) Rowley AH, Wolinsky SM, Relman DA, et al: Search for highly conserved viral and bacterial nucleic acid sequences corresponding to an etiologic agent of Kawasaki disease. Pediatr Res 1994；36: 567-571
- 10) Takahashi M, Peter J: Viral etiology of Kawasaki disease: Molecular Biological Evidence[川崎病の疫学，病態および治療法の日本・北米における比較研究]平成10年度科学研究補助金，国際学術研究(共同研究)成果報告書。研究代表者・加藤裕久：平成11年3月(1999年)研究課題番号0944347，pp34-45
- 11) 谷口 克：免疫の不思議。岩波科学ライブラリー34。東京，岩波書店，1995，p102
- 12) 古川 漸：抗原ペプチドの分離解析。特定非営利活動法人日本川崎病研究センター平成13年度報告書。2002，pp49-53